

Altersabhängige Konzentrationen
Hämoglobin- und Eisen-bindender Proteine
(Haptoglobin, Hämopectin, Transferrin)
in Seren von
gesunden und kranken Kindern

Elisabeth Charlotte Baumann

1982
—

Aus der Kinderklinik der Universität München
im

Dr. von Hauner'schen Kinderspital

Direktor: Prof. Dr. K. Betke

Altersabhängige Konzentrationen Hämoglobin-
und Eisen-bindender Proteine (Haptoglobin,
Hämoexin, Transferrin) in Seren von
gesunden und kranken Kindern

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Elisabeth Charlotte Baumann

aus München

1981

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. K.-D. Tymphner

Mitberichterstatter: Prof. Dr. K. Betke

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 28.1.1982



1	Eigene Untersuchungen (Hochdruckphysik)
2	Untersuchungen
14	EIGENE UNTERSUCHUNGEN
15	Beschreibung der Platten
16	Arbeits- und Auswertverfahren
17	Ergebnisse der Platten
18	Eigenschaften der verwendeten
19	Immunisationsverfahren
20	Ergebnisse der Versuche
21	Ergebnisse der Platten
22	Ergebnisse der Platten
23	Ergebnisse der Platten
24	Ergebnisse der Platten
25	Ergebnisse der Platten
26	Ergebnisse der Platten
27	Ergebnisse der Platten
28	Ergebnisse der Platten
29	Ergebnisse der Platten
30	Ergebnisse der Platten
31	Ergebnisse der Platten
32	Ergebnisse der Platten
33	Ergebnisse der Platten
34	Ergebnisse der Platten
35	Ergebnisse der Platten
36	Ergebnisse der Platten
37	Ergebnisse der Platten
38	Ergebnisse der Platten
39	Ergebnisse der Platten
40	Ergebnisse der Platten
41	Ergebnisse der Platten
42	Ergebnisse der Platten
43	Ergebnisse der Platten
44	Ergebnisse der Platten
45	Ergebnisse der Platten
46	Ergebnisse der Platten
47	Ergebnisse der Platten
48	Ergebnisse der Platten
49	Ergebnisse der Platten
50	Ergebnisse der Platten
51	Ergebnisse der Platten
52	Ergebnisse der Platten
53	Ergebnisse der Platten
54	Ergebnisse der Platten
55	Ergebnisse der Platten
56	Ergebnisse der Platten
57	Ergebnisse der Platten
58	Ergebnisse der Platten
59	Ergebnisse der Platten
60	Ergebnisse der Platten
61	Ergebnisse der Platten
62	Ergebnisse der Platten
63	Ergebnisse der Platten
64	Ergebnisse der Platten
65	Ergebnisse der Platten
66	Ergebnisse der Platten
67	Ergebnisse der Platten
68	Ergebnisse der Platten
69	Ergebnisse der Platten
70	Ergebnisse der Platten
71	Ergebnisse der Platten
72	Ergebnisse der Platten
73	Ergebnisse der Platten
74	Ergebnisse der Platten
75	Ergebnisse der Platten
76	Ergebnisse der Platten
77	Ergebnisse der Platten
78	Ergebnisse der Platten
79	Ergebnisse der Platten
80	Ergebnisse der Platten
81	Ergebnisse der Platten
82	Ergebnisse der Platten
83	Ergebnisse der Platten
84	Ergebnisse der Platten
85	Ergebnisse der Platten
86	Ergebnisse der Platten
87	Ergebnisse der Platten
88	Ergebnisse der Platten
89	Ergebnisse der Platten
90	Ergebnisse der Platten
91	Ergebnisse der Platten
92	Ergebnisse der Platten
93	Ergebnisse der Platten
94	Ergebnisse der Platten
95	Ergebnisse der Platten
96	Ergebnisse der Platten
97	Ergebnisse der Platten
98	Ergebnisse der Platten
99	Ergebnisse der Platten
100	Ergebnisse der Platten

Diese Arbeit widme ich meinem Vater

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG	Seite 1
II.	LITERATURÜBERSICHT	2
1.	Haptoglobin	2
1.1.	Nomenklatur	2
1.2.	Physikalisch-chemische Eigenschaften	2
1.3.	Polymorphismus	3
1.4.	Funktion	6
1.5.	Qualitative und quantitative Bestimmungsmethoden	6
2.	Hämopexin	7
2.1.	Nomenklatur	8
2.2.	Physikalisch-chemische Eigenschaften	8
2.3.	Funktion	9
2.4.	Nachweismethoden	9
3.	Transferrin	10
3.1.	Nomenklatur	10
3.2.	Physikalisch-chemische Eigenschaften	11
3.3.	Polymorphismus	11
3.4.	Funktion	12
3.5.	Nachweismethoden	14
III.	METHODIK	16
1.	Prinzip der Bestimmung	16
2.	Eigenschaften der verwendeten Immundiffusionsplatten	18
3.	Beschicken der Platten, Ablesen und Auswerten	19
IV.	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	22
1.	Untersuchungsgut	22
2.	Eigene Ergebnisse (Median/Quartilsystem)	22

3.	Einführende Zusammenstellung über klinische Abweichungen der drei untersuchten Transportproteine	26
3.1.	Haptoglobin - klinische Abweichungen	26
3.2.	Hämopexin - klinische Abweichungen	27
3.3.	Transferrin - klinische Abweichungen	28
V.	GRAPHISCHE DARSTELLUNG DER EIGENEN ERGEBNISSE UND DISKUSSION	30
1.	Haptoglobin	30
1.1.	Altersabhängige Haptoglobinkonzentration in Kinderseren in den Altersgruppen 1 (NV) bis 9 (13. LJ)	30
1.2.	Diskussion zu den Kurven	31
2.	Hämopexin	33
2.1.	Altersabhängige Hämopexinkonzentration in Kinderseren in den Altersgruppen 1 bis 9	33
2.2.	Diskussion zur Kurve	34
3.	Transferrin	34
3.1.	Altersabhängige Transferrinkonzentration in Kinderseren in den Altersgruppen 1 bis 9 und Eisenkonzentration in den Altersgruppen 3 (3. Mo.) bis 9	34
3.2.	Diskussion zu den Kurven	35
VI.	ZUSAMMENFASSUNG	36
VII.	LITERATURVERZEICHNIS	40

I. EINLEITUNG

In der vorliegenden Arbeit wurden quantitative Haptoglobin-, Hämoexin- und Transferrinbestimmungen mit der einfachen radialen Immunodiffusion (52) durchgeführt.

Das Interesse galt der Konzentration dieser drei in der Leber synthetisierten Transportproteine in Seren von Kindern, sowie deren klinischen Abweichungen bei verschiedenen Erkrankungen. Es erfolgte eine Einteilung der untersuchten Seren in neun Altersgruppen. Zusätzlich wurde dem Transferringehalt der Seren in Relation zum Eisengehalt besondere Aufmerksamkeit geschenkt.

II. LITERATURÜBERSICHT

1. H a p t o g l o b i n

Die Haptoglobine sind eine Gruppe von Glykoproteinen der α_2 -Globulinfraktion mit der Aufgabe, intravasal freigesprochenes Hämoglobin im Serum zu transportieren. Im Jahre 1938 wurden sie von POLONOVSKI und JAYLE entdeckt (38, 66, 67). Ihre Funktion, Struktur und phänotypischen Varianten sind Gegenstand intensiver Forschung (21, 39, 45).

1.1. Nomenklatur

Als Synonyme finden wir:

Séromucoide α_2 (JAYLE und BOUSSIER, 1955), PS-2A (SCHULTZE et al., 1962), M-2 (MEHL et al., 1949) (38, 42, 75).

JAYLE und Mitarbeiter konnten zeigen (21, 42), daß es sich bei den Haptoglobinen um eine heterogene Gruppe von Proteinen mit den Hauptvertretern Hp1-1, Hp1-2 und Hp2-2 handelt, auf deren genetischen Polymorphismus weiter unten eingegangen wird.

1.2. Physikalisch-chemische Eigenschaften

Als physikalische Charakteristika finden wir (39, 42) für Hp1-1:

Sedimentationskonstante	(S ₂₀ , w)	4,4 S
Diffusionskoeffizient	(D ₂₀ , w)	4,7
Molekulargewicht		85 000
Isoelektrischer Punkt	(PI)	4,1
Extinktionskoeffizient	(E 280 mμ)	12,0

für Hp1-2:

Sedimentationskonstante	6,4 S
mittleres Molekulargewicht	200 000

für Hp2-2:

Sedimentationskonstante	7,5 S
mittleres Molekulargewicht	400 000

Chemische Struktur:

Hp1-1 enthält 11,2 % Stickstoff, besteht aus 734 Aminosäuren mit Valin als N-terminaler Aminosäure. Es enthält 19,3 % Kohlenhydrat (Hexose 7,8 %, Hexosamin 5,3 %, Sialinsäure 5,3 %, Fucose 0,2 %) (14, 42, 81).

1.3. Polymorphismus

Über den genetischen Polymorphismus der Haptoglobine läßt sich folgendes sagen (21, 42, 56, 75):

Es gibt drei Varianten des Haptoglobins, nämlich das Hp1-1, das Hp1-2 und das Hp2-2 als Genprodukte der kodominanten Allele Hp1 und Hp2. Es konnte gezeigt werden, daß alle Haptoglobintypen aus zwei verschiedenen Polypeptidketten bestehen, als α - bzw. β - Ketten bezeichnet (1, 3, 19, 36, 39, 43, 44, 45, 78).

Jedes Molekül besitzt ein Paar von jedem Typ, also jeweils zwei α -Ketten und zwei β -Ketten, entsprechend dem kodominanten Erbgang.

Der Polymorphismus ist in den α -Ketten zu suchen, während die β -Ketten alle gleich sind. Es existieren also 1- α -Ketten (Hp1) und 2- α -Ketten (Hp2), wobei von den 1- α -Ketten wiederum zwei Sorten gefunden werden, die 1- α -F-Ketten (fast electrophoretic mobility) und die 1- α -S-Ketten (slow electrophoretic mobility).

So konnten sechs verschiedene Phänotypen unterschieden werden: Hp1S-1S, Hp1F-1S, Hp1F-1F, Hp1S-2, Hp1F-2, Hp2-2.

Hp1- α -F und Hp1- α -S unterscheiden sich nur durch den Austausch einer einzigen Aminosäure.

Es stellte sich heraus, daß die Hp-2- α -Ketten im wesentlichen aus einer Hp1- α -F-Kette und einer Hp1- α -S-Kette besteht, die über ein funktionales Peptid verbunden sind.

Zur Erklärung dieser Bildung einer Polypeptidkette durch zwei verschiedene Gene kann mit größter Wahrscheinlichkeit der folgen-

de genetische Mechanismus herangezogen werden:

nicht-homologes crossing-over zweier Chromosomen in einem heterozygoten Individuum (Hp1/Hp2) mit einer daraus resultierenden nahezu kompletten Genverdoppelung und einer nahezu kompletten Gendeletion. Dieses genetische Ereignis wird als ursächlich für die Entstehung des Hp2-gens postuliert (1, 21, 79, 80).

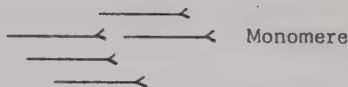
Die unterschiedlichen Molekulargewichte und die unterschiedliche elektrophoretische Wanderungsgeschwindigkeit (75) der verschiedenen Hp-Typen erklären sich aus der Tatsache, daß die Hp1-1-moleküle eine einzige Bindungsstelle aufweisen und daher nur als Monomere vorkommen, während die Hp2-2-moleküle zwei Bindungsstellen komplementärer Affinität besitzen, was ihnen die Fähigkeit zur Polymerisierung verleiht.

Für das Hp1/Hp2-heterozygote Individuum gilt, daß Hp1 und Hp2 in ungefähr gleicher Menge produziert werden. Es werden sich Hp1-Einheiten und Hp2-Einheiten verbinden und Hp2-Einheiten rein zufällig mit Hp2-Einheiten, die schon mit Hp1-Einheiten verbunden sind (75). Das Ergebnis wird die Bildung von Polymeren verschiedener Größenordnung sein.

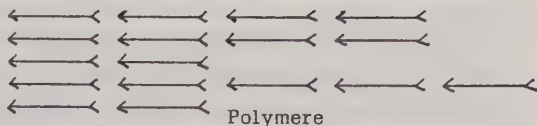
Dazu folgendes Modell:



Hp1-1-fraktion:



Hp2-2-fraktion:



Hp1-2-fraktion:



Die rassische Verteilung der verschiedenen Haptoglobintypen schwankt erheblich.

Abgesehen von den drei typischen Vertretern (18, 42) finden sich noch andere Haptoglobintypen, allerdings sehr selten, so das Hp2-1 M(modified), HpCa, Hp Johnson, Hp Johnson Modified, Hp F und Hp D.

Die verschiedenen Haptoglobintypen können in der forensischen Medizin Verwendung finden, unter anderem zu dem Zweck, Vaterschaften festzustellen (51, 68).

Haptoglobin ist nächst dem α_2 -Makroglobulin in der α_2 -Fraktion am stärksten vertreten. Es konnte bewiesen werden, daß die verschiedenen Haptoglobine in ihrer Antigenität nicht absolut identisch sind (3, 19, 42, 43). Bei der Agargelelektrophorese stellt sich das Hp1-1 als das am schnellsten wandernde, das Hp2-2 als das am langsamsten wandernde Protein heraus (69). Die Unterschiede sind allerdings geringfügig.

Die normale Konzentration im Erwachsenenenserum ist individuell stark verschieden (42, 60); sie beträgt 30 - 290 mg/100 ml und scheint in hohem Maße von hereditären Faktoren beeinflußt zu sein.

1.4. Funktion

Die bedeutendste Eigenschaft des Haptoglobins ist sein Vermögen, selektiv mit Hämoglobin stabile Komplexe zu bilden (56, 59). Im gegenwärtigen Wissensstand spricht alles dafür, daß sich die Aufnahmestelle für das Hämoglobin auf der β -Kette des Haptoglobins befindet. Die Bildung der Haptoglobin-Hämoglobinkomplexe erfolgt mit Hämoglobindimeren und die gesättigten Komplexe bestehen aus einem Molekül Haptoglobin und zwei Hämoglobinhälften. In vivo wird der als Folge einer Hämolyse sich bildende Haptoglobin-Hämoglobinkomplex durch das RES eliminiert (23, 36).

Der Hp-Hb-Komplex hat ein Molekulargewicht von mindestens 155 000 (36, 42), was seine Passage durch die renalen Glomeruli verhindert. Wenn Hämoglobin intravenös injiziert wird (42) oder wenn eine exzessive Hämolyse im Körper stattfindet, erscheint so lange kein freies Hämoglobin im Urin, bis das Haptoglobin gesättigt ist.

Deshalb kann die renale Schwelle für Hämoglobin hauptsächlich durch die im Blut vorhandene Menge an Haptoglobin bestimmt werden (91).

Dementsprechend erfüllt das Haptoglobin eine wichtige Aufgabe dadurch, daß es den Verlust von Eisen in den Urin und einen Schaden der renalen Tubuli verhindert, der durch die Hämoglobinexkretion entstehen könnte (2, 49, 91).

Durch die Bindung mit Haptoglobin erhöht das Hämoglobin seine Peroxidaseeigenschaften und es wird leichter durch das RES phagozytiert, hauptsächlich von den Kupffer'schen Sternzellen, was der schnelleren Eisenreutilisation dient (42, 49, 66).

1.5. Qualitative und quantitative Bestimmungsmethoden

Zur qualitativen Haptoglobinbestimmung bedient man sich der vertikalen Stärkegelelektrophorese in der Modifikation der von SMITHIES erstellten Methode (4, 19, 20, 40, 84).

Als quantitative Methode kennt man die von JAYLE und NYMAN beschriebene Methode, bei der nicht direkt das Haptoglobin, sondern die Peroxidaseaktivität des Haptoglobin-Hämoglobinkomplexes gemessen wird (66, 84). Dieser Methode haften jedoch bekanntlich Mängel und Fehlermöglichkeiten an und sie ist der in dieser Arbeit verwendeten quantitativen Haptoglobinbestimmung durch radiale Immunodiffusion unterlegen (46, 52, 76, 84), da diese auf Spuren von Haptoglobin im Serum reagiert und mit sehr geringen Serummengen ausgeführt werden kann. Ferner ist die Reinheit des zu untersuchenden Serums unwesentlich, da die Antigeneigenschaft des Haptoglobins sich auch auf den Haptoglobin-Hämoglobinkomplex erstreckt, wie mehrmalige Vergleiche zwischen hämolytischen und nicht-hämolytischen Seren gezeigt haben (84).

Auf die Methode wird später noch genauer eingegangen.

2. H ä m o p e x i n

Als Hämopexin wird eines der drei Häm pigmente bindenden Plasmaproteine bezeichnet.

Nachdem 1933 HEILMEYER durch spektrophotometrische Studien der Nachweis einer Bindung von Häm atin an Serumalbumin gelungen und 1938 durch POLONOVSKI und JAYLE im Blutplasma eine Hämoglobin bindende Substanz entdeckt worden war, tauchten die ersten Hinweise auf das Vorhandensein eines dritten Häm pigmente bindenden Seroproteins in den Jahren 1957/58 auf (15).

Diese Hinweise stammten von ALLISON und REES sowie NEALE und Mitarbeitern (15), die unabhängig voneinander nachweisen konnten, daß bei Hämolysen nach vollständigem Verbrauch des Haptoglobins überschüssiges Hämoglobin bzw. seine Abbauprodukte nicht nur von Albumin, sondern auch von β -Globulinen des Serums gebunden werden. Mit Hilfe verschiedener Nachweismethoden ließ sich in der Folge die Existenz einer Häm-bindenden β -Globulinfraktion sichern (11, 12, 13).

2.1. Nomenklatur

Die uneinheitliche Nomenklatur beruht auf der unterschiedlichen Gewichtung der Eigenschaften durch die Beschreibung der Untersucher.

Von den Synonyma (42) seien an dieser Stelle genannt:

Hämopexin (Hpx) (GRABAR et al., 1960) (29), Heme-binding α -globulin (NYMAN, 1960) (59), Séromucoide α 1A (BISEKTE und LATURAZE, 1960) (11, 12, 13), Cytochromophilin (BISEKTE et al., 1960), α 1B-Globulin (BURTIN, 1960), α 1-Haptoglobin (α 1H) (KORINEK und MACH, 1961), PS-3A (SCHULTZE et al., 1962), MP-3 (MEHL et al., 1949)(74).

Die erste Reindarstellung des Hämopexins aus dem Serum gelang BISEKTE und Mitarbeitern 1960 durch fraktionierte Ammoniumsulfatfällung und Säulenchromatographie über DEAE-Cellulose (13).

2.2. Physikalisch-chemische Eigenschaften

Das Hämopexin gehört zu den perchlorsäurelöslichen Seromukoiden und wandert bei papier- und acetatfolienelektrophoretischer Auftrennung mit der β -1-Globulinfraktion (11, 46). In der Stärkegelelektrophorese deckt sich die Hämopexinbande mit der des Haptoglobins1-1 und der anodischen Fraktion des Haptoglobins2-1 und kann aus diesem Grunde bei Vorliegen einer Anhaptoglobinämie Anlaß zu Fehldeutungen geben (15).

Das Molekulargewicht wurde zu 80 000 ermittelt, die Sedimentationskonstante ($S_{20, w}$) ist 4,8 S (42), der Extinktionskoeffizient ($E_{280 \text{ m}\mu}$) 16,9. Die elektrophoretische Beweglichkeit beträgt 3,1 (11). Hämopexin ist eines der löslichsten Seroproteine. Es besteht aus 554 Aminosäuren und ist ein Glykoprotein mit einem Kohlenhydratanteil von 22,6 % (Hexose 9,0 %, Hexosamin 7,4 %, Sialinsäure 5,8 %, Fucose 0,4 %) (42). Es besitzt starke Immunogenität (11), seine elektrophoretische Beweglichkeit ist fast identisch mit derjenigen des Transferrins (11, 42). Die Konzentration im normalen Erwachsenenserum beträgt 80 - 100 mg/100 ml (42, 74).

2.3. Funktion

Beim Menschen werden globinfreie Hämderivate, abgesehen vom Albumin, nur vom Hämopectin gebunden, während die Hämoglobinbindung ausschließlich an das Haptoglobin erfolgt (15). Ein Hämopectinmolekül vermag sich mit 15 - 20 Hämolekülen zu verbinden (12, 42, 57, 65).

Was die Bindungsaffinität des Albumins und des Hämopectins gegenüber den Hämderivaten betrifft, so konnte von verschiedenen Untersuchern herausgefunden werden, daß Hämopectin gegenüber Hämderivaten eine höhere Affinität besitzt als Albumin (15).

Die komplizierten Funktionsabläufe zusammenfassend (15, 17, 65), läßt sich sagen, daß sich als Hauptabbauweg intravasal freigesetzten Hämoglobins die Elimination in Form des Haptoglobin-Hämoglobinkomplexes anbietet. In dem Maße, wie die Haptoglobinkonzentration abnimmt, tritt ein Mechanismus in den Vordergrund, der zur Dissoziation und Oxidation größerer Mengen freien Hämoglobins führt. Das dabei entstehende Hämatin bildet komplexe Verbindungen mit Hämopectin und Albumin entsprechend ihrer unterschiedlichen Bindungsaffinität. Die beiden Hämatin-Proteinkomplexe verlassen mit verschiedenen Verschwindensraten den Kreislauf, wobei als ziemlich gesichert gilt, daß die gebildeten Komplexe beim Menschen hauptsächlich in der Leber und zwar ausschließlich von den Leberparenchymzellen aufgenommen werden (15, 42). Hämopectin schützt also den Organismus durch komplexe Bindung von Hämoglobinabbauprodukten vor renalen Eisenverlusten und ermöglicht durch einen unmittelbar nach der Freisetzung beginnenden Eliminations- und Abbaumechanismus eine schnelle Reutilisation des Eisens für die Erythropoese (15).

2.4. Nachweismethoden

Als eine der ältesten Methoden zum Nachweis von Hämatin bzw. von Hämatin-Proteinkomplexen diente der Schumm-Test, der sich das charakteristische Absorptionsspektrum des aus der Hämatin-Eiweißverbindung durch Ammoniumsulfateinwirkung entstandenen

Protein-Hämochromogenkomplexes zunutze macht (15).

Der Schumm-Test eignet sich allerdings nur zur globalen Erfassung von Hämatin-Protein-Komplexen im Serum (77). SEARS beschrieb ein elektrophoretisches Verfahren auf Papier- oder Acetatfolie als Trägermedium, mit dem sich nach Inkubation des Plasmas mit Hämatin und Färbung mit o-Dianisidin durch Extinktionsmessung der an Hämoexin gebundene Anteil des Farbstoffes bestimmen ließ (15, 77).

Eine Verbesserung und Vereinfachung erfuhren die Bestimmungsmethoden durch die Einführung immunologischer Verfahren, wie die Immunelektrophorese und Doppeldiffusionstechnik im Agargel nach OUCHTERLONY (15, 61, 76). Mit der Elektroimmunodiffusion nach LAURELL und der radialen Immunodiffusion nach MANCINI und Mitarbeitern stehen heute für die immunologische Hämoexinbestimmung relativ einfache und genaue Meßmethoden zur Verfügung (15, 52).

3. T r a n s f e r r i n

Der Eisentransport im Plasma wird durch das Transferrin, ein β -1Globulin gewährleistet (47,72).

Die physikalisch-chemischen Eigenschaften dieses von SMITHIES entdeckten Transportproteins wurden besonders eingehend von SCHULTZE untersucht (76).

3.1. Nomenklatur

Als Synonyma finden sich in der Literatur (42):

Transferrin (HOHNBERG und LAURELL, 1947), Siderophilin (SCHADE et al., 1949), β 1-metal-combining globulin (SURGENOR et al., 1949), β 1S-globulin (GRABAR und BURTIN, 1955), Métalloséromucoide β 1 (MONTREUIL, 1957) (42, 47, 71).

3.2. Physikalisch-chemische Eigenschaften

Als physikalische Eigenschaften wurden bestimmt (8):

Sedimentationskonstante (S ₂₀ , w)	5,5 S
Diffusionskoeffizient (D ₂₀ , w)	5,0
Molekulargewicht	90 000
Elektrophoretische Beweglichkeit	3,1
Isoelektrischer Punkt (PI)	5,9
Extinktionskoeffizient (E ₂₈₀ mp)	11,2

Eisenfreies Transferrin ist farblos, aber wenn es die Bindung mit Eisen eingeht, wird es rosafarben und zeigt eine maximale Absorption bei 470 und 410 mp.

Zu den chemischen Eigenschaften (8) ist zu sagen:

Stickstoffgehalt von 15,4 %, ein Glykoprotein mit 5,8 % Kohlenhydratgehalt (Hexose 2,4 %, Hexosamin 2,0 %, Sialinsäure 1,4 %, Fucose 0,07 %). Transferrin kann auskristallisieren und ist aus 827 Aminosäuren zusammengesetzt mit Valin als N-terminaler Aminosäure (64).

3.3. Polymorphismus

Seit der Zeit der Entdeckung des Transferrins durch SMITHIES mit Hilfe der Stärkegelelektrophorese wurde von 18 verschiedenen hereditären Typen des Transferrins berichtet (87). SMITHIES bezeichnete die bedeutsamste Komponente mit C, während er die schneller wandernden Typen Transferrin-B-Gruppe und die langsamer wandernden Transferrin-D-Gruppe benannte (75, 78). Transferrin-C erscheint mit überwiegender Häufigkeit, während Transferrin-B und Transferrin-D nur selten gefunden werden. Andere Transferrine kommen in homozygoter Form nur selten vor und viele werden in mit Transferrin-C heterozygoter Form gefunden. Obwohl noch viele Punkte über den genetischen Polymorphismus unklar sind, darf angenommen werden, daß das Transferrin durch kodominante autosomale Allele kontrolliert wird. Chemische Unterschiede der zur Zeit bekannten Transferrintypen sind nicht beobachtet worden (42, 70).

3.4. Funktion

Der Normwert bei Erwachsenen liegt bei 200 - 300 mg/100 ml. Es ist mit 50 % der quantitativ bedeutsamste Anteil der β -Fraktion (22, 42).

Jedes Transferrinmolekül ist in der Lage, zwei Atome Eisen Fe^{+++} zu binden, wobei der Bindungsmechanismus des Metalls an das Protein-Molekül noch nicht endgültig geklärt ist (24, 41, 47, 48, 70, 73). Die Bindung ist pH-abhängig, wobei der Komplex beim pH des Blutes stabil ist und durch pH-Wert-Erniedrigung und -Erhöhung Eisen abgespalten werden kann. Bei pH 4 ist die Dissoziation vollständig (42, 70). Außerdem kann Fe^{+++} durch Dialyse vom Transferrinmolekül entfernt werden (42).

Transferrin hat eine starke Affinität zu Eisen, aber es kann sich ebenfalls, wenn auch schwach, mit Kupfer, Magnesium, Zink und anderen Metallen verbinden (8, 31, 32, 42).

Die biologische Funktion des Transferrins liegt in der Fähigkeit begründet, leicht dissoziierende Eisen-Transferrinkomplexe zu bilden, die ein schnell verfügbares, im Blut zirkulierendes, nicht toxisches Eisendepot darstellen und den Verlust von Plasmaeisen durch die Niere verhindern (56, 70, 85). Normalerweise ist es nur zu einem Drittel mit Eisen gesättigt (42, 70, 73). Mehr als 99 % des Serumeisens, also etwa 110 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ im Serum, sind an Transferrin gebunden (42).

Seine hervorragende Aufgabe hat das Transferrin (24, 70) bei den Austauschvorgängen des Eisens im RES und im Knochenmark zu erfüllen. Dabei bindet das Eisen, das beim Hämoglobinmetabolismus in der Milz oder andernorts frei geworden ist und aus dem Intestinallumen über den Apoferritin-Ferritinmechanismus aufgenommenes Eisen (25) und trägt es an die blutbildenden Stätten im Knochenmark und RES heran, wo es sich dann spezifisch an die Oberfläche unreifer roter Blutzellen bindet. Eisen-Transferrinkomplexe werden dabei stärker gebunden als eisenfreies Transferrin, das nach Eisenabgabe an die Erythroblasten wieder von

der Zelloberfläche durch eisenbeladenes Transferrin verdrängt wird (37).

Es besteht eine direkte Linearität zwischen totaler Eisenbindungs-kapazität des Serums und seiner Transferrinkonzentration (56). Auf Grund theoretischer Erwägungen und experimenteller Befunde ergibt sich folgende Beziehung: 1 mg Transferrin bindet unter vollkommener Sättigung 1,25 μg Eisen (56, 71). Der normale Transferringehalt entspricht einer eisenbindenden Kapazität von 250 - 450 μg Eisen pro 100 ml Serum. Dies wird als totale Eisenbindungs-kapazität bezeichnet (70). Unter latenter Eisenbindungskapazität versteht man die Differenz zwischen totaler Eisenbindungskapazität und transferringebundenem Eisen (58, 70, 86).

Die physiologische Aufgabe (42, 85), die das Transferrin durch seine Eisenbindung erfüllt, läßt sich wie folgt zusammenfassen:

Es neutralisiert einen Überschuß an ionisiertem Eisen (42).

Wenn sich überschüssiges ionisiertes Eisen im Blut befindet, treten toxische Symptome auf wie Übelkeit, Erbrechen und Flush. Das Transferrin bindet jedoch sofort das überschüssige Eisen, wenn es pathologisch erhöht ist. Auf diese Weise verhindert es das Auftreten toxischer Symptome. So kann z.B. ein normaler Mensch eine intravenöse Injektion von 8 - 12 mg Fe^{+++} tolerieren, vorausgesetzt, daß das Transferrin wie im Normalfall zu einem Drittel mit Eisen gesättigt ist. War das Transferrin aber schon vorher mit Eisen voll abgesättigt, werden schon bei Injektion von nur wenigen Milligramm Eisens toxische Symptome beobachtet.

Es hat also eine Pufferfunktion in Bezug auf das Eisen. Die größte Pufferkapazität finden wir im Apoferritin-Ferritinsystem und im Hämosiderinsystem in den Zellen und Geweben. Da diese Systeme jedoch langsam arbeiten, können sie in Notfallsituationen nicht wirkungsvoll genug eintreten. Nur das Transferrin kann im akuten toxischen Zustand schnell und effektiv genug puffern. Es hält die Eisenkonzentrationen im Plasma gering und es speichert Eisenreserven. Freie Eisenionen können wie andere Metallionen verschied-

dene biologische Aktivitäten im Blut inaktivieren. Deshalb muß die Ionenkonzentration so gering wie möglich gehalten werden. Andererseits sind täglich 25 - 30 mg Eisen nötig, um im Knochenmark Hämoglobin zu synthetisieren. Der Körper muß also mit einer großen Menge Eisens versorgt werden. Um diese beiden Bedingungen zu erfüllen, muß Transferrin als harmloser Eisen-Transferrin-Komplex in der Weise im Blut zirkulieren, daß es jederzeit Eisen in verschiedene Gewebe abgeben kann. Es verhindert die Passage des Eisens in den Urin. Ionisiertes Eisen selbst kann leicht durch die renalen Glomeruli passieren. Da es in den Tubuli nur geringfügig reabsorbiert wird, verhindert die Gegenwart von Transferrin die Exkretion in den Urin (42, 55).

Weiter wird behauptet, daß Transferrin nicht nur eine wichtige Aufgabe im Eisenstoffwechsel erfüllt, sondern daß es das Wachstum von Bakterien und Viren hemmt. Diese antimikrobielle Aktivität bleibt bestehen beim Erhitzen auf 56° C (42, 53, 54).

3.5. Nachweismethoden

Im Einklang mit der wesentlichen Bedeutung des Transferrins im Eisenumsatz steht die Vielzahl der Untersuchungsmethoden (70), die zur quantitativen Bestimmung dieses Proteins zur Verfügung stehen. Bei den bisher benutzten Methoden wurde indirekt diejenige Menge Eisens bestimmt, die spezifisch vom Serum gebunden werden kann (73). Dabei beruht die Bestimmung der eisenbindenden Kapazität des Serums auf der Eigenfarbe des Transferrineisenkomplexes, die lachsrosafarben ist im Gegensatz zum eisenfreien Transferrin. Eine Literaturzusammenstellung der verschiedenen Methoden findet sich bei SCHULTZE (76), LAURELL und NETH (58,70).

In den vergangenen Jahren wurden zu den kolorimetrischen Methoden Radioisotopen-, Gelfiltrations- und quantitative immunologische Techniken ausgearbeitet, von denen insbesondere die Immunpräzipitationsmethode ihrer relativ einfachen Durchführbarkeit und ihrer Spezifität wegen besonders hervorgehoben zu werden verdient (70).

In der vorliegenden Arbeit wurde zur quantitativen Bestimmung des Transferrins, ebenso wie zur Bestimmung des Haptoglobins und Hämopexins ausschließlich von der quantitativen immunologischen Methode nach MANCINI et al. Gebrauch gemacht (52, 61, 76).

III. METHODIK

1. Prinzip der Bestimmung

Die quantitative Haptoglobin-, Hämoexin- und Transferrinbestimmung wurde ausschließlich mit Hilfe der einfachen radialen Immundiffusion durchgeführt.

Bei dieser Methode handelt es sich um die einfachste Technik, die derzeit routinemäßig angewandt wird. Sie geht zurück auf die Arbeiten von MANCINI, CARBONARA und HEREMANS (52).

Auf das Prinzip dieser Methode sei im folgenden näher eingegangen (6, 7, 52, 61, 62, 76):

Das Antigeneigenschaften besitzende Protein wird in eine Auftragstelle eingebracht, die in eine Gelschicht gestanzt ist, die ihrerseits ein gegen das quantitativ zu bestimmende Protein gerichtetes Antiserum enthält. Durch die stattfindende Antigen-Antikörper-Reaktion bildet sich ein Präzipitatrieb, dessen Flächenvergrößerung zunächst eine Funktion der Zeit darstellt, am Endpunkt der Diffusionszeit jedoch der Konzentration an Antigen direkt proportional ist und der empirischen Formel nach MANCINI gehorcht, welche lautet:

$$\text{Fläche} (\pi \cdot R^2) = K_1 \cdot Q_{\text{Ag}} + S_{01}$$

Die Fläche $\pi \cdot R^2$ läßt sich auch folgendermaßen ausdrücken:

$$\frac{D^2 \cdot \pi}{4} = \text{Fläche}$$

Es läßt sich schreiben:

$$\frac{D^2 \cdot \pi}{4} = K_1 \cdot Q_{\text{Ag}} + S_{01}$$

$$D^2 = \frac{K_1 \cdot 4 \cdot Q_{Ag}}{\pi} + \frac{S_{o1} \cdot 4}{\pi}$$

oder

$$D^2 = K_2 \cdot Q_{Ag} + S_{o2}$$

$$\text{mit } K_2 = \frac{K_1 \cdot 4}{\pi} \quad \text{und } S_{o2} = \frac{S_{o1} \cdot 4}{\pi}$$

Diese Gleichung stellt eine Gerade dar mit den Variablen D^2 und $Q_{Ag} \cdot S_{o2}$, der Schnittpunkt der Geraden mit der y-Achse ist die Funktion des Durchmessers der Auftragstelle und des eingesetzten Antigenvolumens, die ja konstant sind, und damit ebenfalls eine Konstante. Nach MANCINI ist die Steigung der Geraden umgekehrt proportional der Antiserumkonzentration im Gel. Der quadrierte Durchmesser der Präzipitatringe der Standardverdünnungen wird in einem Koordinatensystem auf der Ordinate aufgetragen, während auf der Abszisse der Proteingehalt der Standardverdünnungen eingesetzt wird. Auf diese Weise werden drei Wertepaare einander zugeordnet, deren Schnittpunkte die Eichgerade festlegen.

Durch verschiedene Manipulationen lassen sich folgende Zusammenhänge formulieren, die mathematische Gleichung von BECKER:

$$D^2 = \frac{4 \cdot V_{Ag}}{p \cdot T \cdot \pi \cdot h} \cdot C_{Ag} + d^2$$

wobei p = % Antiserum im Gel (ml/100 ml)

C_{Ag} = Konzentration des Antigens

$T = \frac{Q_{Ag}}{V_{As}}$ ist der Titer, der durch die Menge an Antigen in mg ausgedrückt wird, die durch ein gegebenes Volumen an Antiserum gefällt wird.

Beim Vergleich der empirischen Gleichung von MANCINI in der Umformung nach D^2 und der von BECKER ist festzustellen, daß beide Funktionen linear sind und sich nur in den Größen S_0 und d^2 unterscheiden. Nach MANCINI ist S_0 eine Funktion des Durchmessers der Auftragstelle und des eingesetzten Antigenvolumens, sie ist jedoch unabhängig von der Konzentration des Antikörpers. BECKER hat den Verlauf der radialen Immunodiffusion untersucht und bestätigt, daß S_0 als Grenzwert gegen d^2 geht, wenn das eingesetzte Volumen (V_{Ag}) gegen Null geht. Folglich gilt für ein gegebenes System Antigen-Antikörper bei konstanter Schichtdicke des Gels sowie konstantem Lochdurchmesser und Antigenvolumen, daß der Schnittpunkt S_0 ein Fixpunkt ist, unabhängig von der Steigung K der Geraden. Nach MANCINI ist diese Steigung der Antiserumkonzentration im Gel umgekehrt proportional. Die Gleichung von BECKER bestätigt die Ergebnisse von MANCINI.

Aus obiger Gleichung resultiert für K

$$K = \frac{4 \cdot V_{Ag}}{p \cdot T \cdot \pi \cdot h}$$

Das Produkt $p \cdot T$ ist ein Maß für die Antikörperkonzentration c_{Ak} . T ist ausgedrückt in mg Antigen, das pro ml Antiserum gebunden wird. Folglich ist die Steigung der Geraden eine Funktion der Antikörperkonzentration.

2. E i g e n s c h a f t e n d e r v e r w e n d e - t e n I m m u n o d i f f u s i o n s p l a t t e n

Wie bei jeder quantitativen immunologischen Bestimmung spielt auch hier das richtige Verhältnis zwischen Antigen und Antikörper eine wichtige Rolle, da sich im Falle eines Antigenüberschusses bereits gebildete Immunkomplexe wieder lösen und dadurch das Ergebnis beeinträchtigen können.

Im Handel sind standardisierte Platten für die einfache radiale

Immunodiffusion mit folgenden konstanten Parametern erhältlich (7):

$$\begin{aligned} V_{Ag} &= 5 \text{ } \mu\text{l} \\ \pi &= 3,14 \\ h &= 1,50 \text{ mm} \\ d^2 &= (11 \pm 2,5) \text{ mm}^2 \\ p \cdot T &= \text{konstant} \end{aligned}$$

Die Immunodiffusionsplatten enthielten als Konservierungsmittel Natriumacid (1 mg/100 ml). Als Standardlösungen zur Ermittlung des Haptogloblin-Hämopexingehaltes wurden gebrauchsfertige Verdünnungen verwendet mit folgenden in Tab. 1 aufgeführten Konzentrationen:

Protein	Lsg 1 (mg%)	Lsg 2 (mg%)	Lsg 3 (mg%)
Haptogloblin	64	128	252
Hämopexin	31,5	62	124

Tab. 1: Protein-Standardserum B, Konz. der Standardlösungen

Die Konzentrationen waren in später verwendeten Standards geringfügig verändert. Für die Transferrinbestimmungen wurden die Verdünnungen erst aus "Standard-Humanserum stabilisiert" hergestellt. Die Konzentrationen betrugen 17, 34 und 68 mg%. Die Serumproben wurden zur Haptogloblin- und Hämopexinbestimmung 1:2, zur Transferrinbestimmung 1:10 (1:1 ist unverdünnt) mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt.

3. B e s c h i c k e n d e r P l a t t e n , A b - l e s e n u n d A u s w e r t e n

Zur Beschickung der Partigenplatten wurde ausschließlich von dem Dispenser[®] system Gebrauch gemacht.

Das Dispensersystem besteht im wesentlichen aus einer Glaskapillare, die über einem Drahtstempel läuft, an dessen einem Ende eine geeichte Skala befestigt ist, die es erlaubt, durch Rückziehen des Stempels ein genaues Volumen von 5 μ l aufzusaugen und durch Verschieben des Stempels das Volumen aus dem Glasröhrchen auszuwerfen (7).

Die Diffusion erfolgte bei Raumtemperatur. Abgelesen wurde nicht vor 50 Stunden nach Beschickung der Platten. Bei der Ablesung des Durchmessers wurde eine Ablesegenauigkeit von 1/20 mm angestrebt.

Der ins Quadrat erhobene Durchmesser der Präzipitatringe der drei Standardseren wurde in einem Koordinatensystem auf Millimeterpapier auf der Ordinate, die dazugehörigen Konzentrationen auf der Abszisse aufgetragen. Die für die drei Standardverdünnungen erhaltenen Wertepaare ergaben die Eichgerade, an der die Konzentrationen der zu untersuchenden Seren abgelesen wurden.

Für jedes Serum wurde eine Dreifachbestimmung durchgeführt und aus den erhaltenen Werten der Mittelwert gebildet.

Anhand der Richtigkeitskontrollprobe wurde die Qualität der Platte und die Richtigkeit der Testdurchführung überprüft.

Lag bei der Richtigkeitskontrolle der für das Kontrollplasma ermittelte Wert innerhalb des dafür angegebenen Vertrauensbereiches, so waren grobe Fehler ausgeschlossen.

Bei zu erwartenden niedrigen Proteinkonzentrationen, wie dies beim Nabelvenenblut für Haptoglobin und Hämopectin der Fall ist, wurden die Seren unverdünnt eingesetzt.

Die Empfindlichkeit der Einzelmethode ist identisch mit deren Meßbereich und beträgt 20 - 290 mg% für Haptoglobin, 10,5 - 146 mg% für Hämopectin und 6,5 - 90 mg% für Transferrin für jeweils unverdünntes Serum. In diesem Bereich arbeitet die Methode mit großer Genauigkeit, mit einer Fehlerquote von 1 - 2 %. Die als untere Nachweisgrenze angegebenen Konzentrationen entsprechen jeweils

einem Präzipitatdurchmesser von 4 mm. Der Lochdurchmesser beträgt jedoch 3,5 mm. Es können aber Präzipitatringe von einem Durchmesser zwischen 3,5 und 4 mm liegend durchaus mit der Meßlupe noch abgelesen werden. In diesem Bereich ist aber die Ablesegenauigkeit auf Grund einer gewissen Unschärfe des Ringes aus rein optischen Gründen etwas eingeschränkt, so daß die Methode hier mit einer Fehlerquote von 15 - 20 % behaftet ist.

Eine sehr willkommene Erleichterung und einen großen Gewinn an Genauigkeit bedeutete die Ermittlung der Konzentrationen mit Hilfe des Tischrechners. Bei der Programmerstellung war mir Herr Thomas Brünig, Doktorand an der Kinderchirurgischen Klinik der Universität München, behilflich.

Das Verfahren des eingelegten Programms lautete:
"Ermittlung einer linearen Regression und Erstellung einer Regressionsgeraden $y = a + bx$ ".

Nach Einlegen dieses Programmes wurden dem Rechner drei Wertepaare, nämlich die Konzentrationen und die jeweils dazugehörigen quadrierten Durchmesser der Standardverdünnungen eingegeben. Der Rechner ermittelte daraus eine idealisierte Gerade und gab zu den identisch bleibenden Konzentrationen die korrigierten D^2 -Werte aus. Das Programm wurde ein zweites Mal eingelegt und zur Ermittlung der Umkehrfunktion die Wertepaare in umgekehrter Reihenfolge eingegeben

$$x = \frac{y - a}{b} .$$

Im Anschluß daran rief man durch einfaches Eingeben der D^2 -Werte der zu untersuchenden Serien deren Konzentrationen ab.

IV. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1. U n t e r s u c h u n g s g u t

Untersucht wurden Seren von Kindern in den Altersgruppen 1 (Nabelvene) bis 9 (13. LJ). Das Untersuchungsgut wurde im großen und ganzen ohne Kenntnis der Klinik aus den täglich im Labor einlaufenden Serumproben genommen.

Speziell bemühte ich mich, im Hinblick auf die Transferrinbestimmung Seren zu wählen, bei denen Eisenwerte vorlagen. Darüber hinaus wurden mir liebenswürdigerweise vom Labor von Frau Priv.Do. Dr. Bender-Götze von der Kinderabteilung der Universitäts-Poliklinik Transferrinwerte mit dazugehörigen Eisenwerten zur Verfügung gestellt.

So lag dann insgesamt folgende Anzahl von Werten vor:

Haptoglobin	:	248
Hämopexin	:	254
Transferrin	:	307

Die unterschiedliche Anzahl von Werten in den einzelnen Altersgruppen ergibt sich aus dem oben angegebenen Verfahren, ein zunächst anonymes Kollektiv von Seren zu untersuchen und dann die Seren den einzelnen Altersgruppen zuzuordnen.

2. E i g e n e E r g e b n i s s e (M e d i a n / Q u a r t i l s y s t e m)

Die in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Untersuchungen führten zu den im folgenden Abschnitt gezeigten Resultaten, nämlich den Normwerten von Haptoglobin, Hämopexin und Transferrin in Kinderseren von 9 verschiedenen Altersgruppen.

Es erhebt sich die Frage, welcher mathematische Weg beschritten

werden soll, um die jeweils für eine Altersgruppe gefundenen Werte zusammenzufassen zu einem diese Altersgruppe charakterisierenden Normwert.

Die Angaben von arithmetischen Mittelwerten mit Standardabweichung ist nur zulässig bei Normalverteilungen. Darum handelt es sich aber in diesem Fall zweifellos nicht, denn bei einer Reihe von Werten, besonders im Falle des Haptoglobins, würde die doppelte Standardabweichung, die man üblicherweise als Normalbereich ansieht, bis in negative Werte reichen.

Aus diesem Grunde wird in der vorliegenden Arbeit statt des arithmetischen Mittels der Medianwert angegeben und der Streubereich in Quartilen.

Die bei dieser Methode übliche schrittweise deskriptive Analyse der Daten sei am Beispiel der Haptoglobinswerte der Altersgruppe 4 (3. - 6. Monat) gezeigt: Es sollen die Werte der 15 Patienten betrachtet werden.

In der sogenannten Urliste werden die Werte in der Reihenfolge aufgeschrieben, wie sie zeitlich nacheinander erhalten wurden.

Nr.	Urliste	Rangliste	Median 1. u. 3. Quartil
1	130	0	
2	0	32	
3	64	53	
4	157	62	1. Quartil
5	364	64	
6	74	74	
7	294	93	
8	339	130	Median
9	600	157	
10	192	192	
11	93	256	
12	53	294	3. Quartil
13	256	339	
14	32	364	
15	62	600	

Tab. 2: Schrittweise deskriptive Datenanalyse einer Haptoglobinsreihe bei 15 Kindern
(Wertangaben in mg/100 ml)

Die Anfertigung der Rangliste erfolgt durch Ordnen der Werte vom kleinsten zum größten Wert.

Die Rangliste gibt Auskunft über Werteverdichtungen und Ausreißer. Die erhobenen Befunde können in konkrete Zahlen gefaßt werden. Dazu dient die Angabe des Medians und des 1. und 3. Quartils. Der Median ist derjenige Wert, welcher die Werteskala der Rangliste in eine obere und eine untere Hälfte teilt. Im gezeigten Beispiel: bei 15 Proben, der 8. Wert. Der Median beträgt demnach 130 mg/100 ml. Damit entspricht der Median dem 2. Quartil, während das 1. Quartil das obere, das 3. Quartil das untere Viertel der Rangliste abtrennt. Im gezeigten Beispiel entsprechen die Werte Nr. 4 und Nr. 12 dem 1. und 3. Quartil; die Werteangaben betragen somit 62 und 294 mg/100 ml. Die Werte des 1. und 3. Quartils sind ein Maß für die Streuung innerhalb der Probe.

Die Benutzung des Median/Quartilsystems ist in den meisten Fällen vorzuziehen, da es den Vorteil hat, daß der Rechenaufwand gering ist, daß die Methode unempfindlich ist gegen Ausreißer und daß diese Angaben gemacht werden können, ohne daß die Form der Verteilung, welche der Stichprobe zugrundeliegt, bekannt ist.

Unter Anwendung des Median/Quartilsystems kommt man nun zur Erstellung von Normwerten, dargestellt in folgender Tabelle:

Die Gestaltung der Normwerte mit Hilfe des Median/Quartilsystems wird durch pathologisch erhöhte und pathologisch erniedrigte Einzelwerte kaum beeinflusst, da es, wie bereits erwähnt, eine schätzenswerte Eigenschaft der Methode ist, gegen Ausreißer unempfindlich zu sein. Die oben gezeigte Tabelle mit Normwerten soll für das jeweilige Protein in Kurven umgesetzt werden. Bevor wir uns jedoch der Betrachtung der die Normwerte veranschaulichenden graphischen Darstellung zuwenden, sei noch auf die bisher vernachlässigte Pathophysiologie der untersuchten Proteine eingegangen.

3. E i n f ü h r e n d e Z u s a m m e n s t e l l u n g ü b e r k l i n i s c h e A b w e i c h u n g e n d e r d r e i u n t e r s u c h t e n T r a n s - p o r t p r o t e i n e

Es scheint mir dies der Ort, eine kurze Zusammenstellung von klinischen Abweichungen der drei untersuchten Proteine zu geben, die in der Literatur gefunden wurden (42, 91).

3.1. Haptoglobin - klinische Abweichungen

Das Haptoglobin zeigt im Normbereich eine starke Streuung (10 - 220 mg %) (26), so daß es schwierig ist, einen Haptoglobinwert als sicher pathologisch zu definieren. Die große Variabilität des Haptoglobins beruht auf seiner genetisch determinierten molekularen Heterogenität. Auf die Problematik, mit immunochemischen Methoden ohne Kenntnis des Hp-Typs Normalwerte für dieses Protein aufstellen zu wollen, haben ALY und BRAUN aufmerksam gemacht (26).

Haptoglobinerhöhung:

Es ist bekannt, daß sich die Haptoglobinfraction als ein acute - phase reactant enorm erhöht als Antwort auf verschiedene entzündliche Reize und Gewebse Nekrosen (42).

Des weiteren findet man erhöhte Werte bei Behandlung mit Andro-

genen (56), bei Lungenkrankheiten wie Bronchopneumonie, Bronchialkarzinom, Tuberkulose, Silikose, Silikotuberkulose und nach Myokardinfarkt und vorübergehend nach Operationen (8). Diese Erhöhung zeigt die reaktive Phase.

Erhöht sind die Haptoglobinwerte ebenfalls nach langwährender physischer Belastung (8), bei Viruspneumonie, Blasen-ca, Colitis ulcerosa (4), bei Cholecystopathie, Diabetes mellitus (8), bei Schizophrenen vor der Behandlung mit Fluphenazin, wobei nach der Behandlung das Haptoglobin erhöht bleibt (8).

Haptoglobinniedrigung:

An dieser Stelle sei zunächst die kongenitale Anhaptoglobinämie erwähnt (42).

Haptoglobin ist vor allem in dem Augenblick erniedrigt, wo eine vermehrte Hämolyse stattfindet (50). Es wird mehr Haptoglobin verbraucht (5), um das freigewordene Hämoglobin ins RES abzuführen. Aus dem vermehrten Verbrauch des Haptoglobins resultiert jedoch **k e i n** Anstieg der Syntheserate (56, 83). Leberparenchymschäden (Hepatitis, Zirrhose) senken ebenfalls die Syntheserate (42).

Weitere Erkrankungen, die ebenfalls zu einer Hypohaptoglobinämie führen, sind: Osteomyelose (4), vegetative Dystonie (4), Morbus Waldenström mit Begleithämolyse (4), nephrotisches Syndrom (89).

3.2. Hämopexin - klinische Abweichungen

Erhöhte Hämopexinwerte:

Erhöhungen des Hämopexins im Serum wurden bei verschiedenen Erkrankungen mit entzündlichen (15), nekrotisierenden (15) und neoplastischen (15) Gewebeprozessen beobachtet, ebenso wie bei verschiedenen Pulmonalerkrankungen und beim Diabetes mellitus (15). Im Tierexperiment ließen sich erhöhte Serumhämopexinkonzentrationen durch Erzeugung steriler Entzündungen nach subkutanen

Terpentininjektionen erzielen. Damit scheint die Annahme nahe-liegend, daß die Synthese des Hämo-pexins ähnlich wie die anderer Glykoproteine durch Geweb-faktoren stimulierbar ist (15).

Erniedrigte Hämo-pexinwerte:

Eine Hypohämo-pexinämie findet sich bei mit Hämo-lyse einhergehen-den Erkrankungen (42, 50). Erniedrigungen des Serumhämo-pexins ließen sich in der Regel nur dann feststellen, wenn die Haptoglobi-nkonzentration auf stark verminderte oder nicht meßbare Werte ab-gesunken war (15). Nach Sistieren der Hämo-lyse steigt das Serum-hämo-pexin rasch an (5, 15).

Eine Erniedrigung zeigt sich außerdem bei inneren Blutungen in Körperhöhlen und Organe, besonders bei hämo-rrhagischer Pankreati-tis (42). Verminderte Hämo-pexinwerte wurden auch bei Porphyria cutanea tarda beobachtet. Dies wird auf die Bindung von Porphyrin-derivaten und Elimination aus der Zirkulation zurückgeführt (15).

Die Hämo-pexinverminderung bei Leberparenchymschädigung ist als Ausdruck einer Synthesestörung zu werten, diejenige bei Nephrose-syndrom als Folge erhöhter glomerulärer Permeabilität. Auf einem analogen Mechanismus dürften Hypohämo-pexinämien bei exsudativer Enteropathie beruhen (15).

3.3. Transferrin - klinische Abweichungen

Erhöhte Werte:

Erhöhte Transferrinwerte finden wir in der Gravidität, bei Eisen-mangelanämie und im frühen Stadium der aktuen Hepatitis (42).

Erniedrigte Werte:

Abgesehen von der kongenitalen Atransferrinämie finden sich er-niedrigte Werte bei Hypoproteinämie, bei Neoplasien, akut und chronisch entzündlichen Erkrankungen, hämo-lytischen Syndromen, nephrotischem Syndrom, chronischen Lebererkrankungen einschließ-lich der Hämo-chromatose (9, 10, 28, 33, 34, 35, 42, 70, 88).

Die diagnostische Bedeutung der Untersuchung des Transferrinspiegels im Serum liegt vor allem in der differentialdiagnostischen Aussage bei Hyposiderinämie verschiedener Ursache (70).

Die Konstellation Hyposiderinämie und Vermehrung des Transferrins entspricht einer Eisenmangelsituation mit entsprechenden therapeutischen Konsequenzen, die Konstellation Hyposiderinämie und Verminderung des Transferrins lenkt die diagnostischen Bemühungen in Richtung auf entzündliche und neoplastische Erkrankungen.

Auffallend erscheint das reziproke Verhalten von Transferrinkonzentration und Eisensättigung der Depots bei den von I. RENTSCH untersuchten Prozessen. So zeigen Eisenmangelzustände bei einer Transferrinvermehrung eine Entleerung der Depots, während entzündliche und neoplastische Veränderungen mit dem vermehrten Einstrom von Eisen in das RES eine Transferrinverminderung verursachen (70). Diese Beobachtung entspricht der von BRAUNSTEINER (16) geäußerten Theorie eines dynamischen Gleichgewichts zwischen dem Vehikelprotein Transferrin im Blut und dem Speicherprotein Apoferritin. Der Autor hält es wie VENTURA (86) für möglich, daß Apoferritin zu Transferrin aufgespalten wird (70). Andererseits wird nach OVERKAMP (63) das zur Eisenspeicherung benötigte Apoferritin aus Transferrin aufgebaut, ein Mechanismus, der auch die Transferrinverminderung bei hämolytischen Erkrankungen zu erklären vermag (70). Bei der genannten Theorie bedeutet das Abfließen des Eisens zu den blutbildenden Organen gleichzeitig ein Freiwerden des Apoferritins. Auf der anderen Seite entspricht der vermehrte Einstrom von Eisen in die Depots (z.B. bei entzündlichen Prozessen) einem vermehrten Bedarf des Organismus an Depotprotein Apoferritin.

Unter diesen Bedingungen ließe sich das wechselnde Verhalten von Transferrin im Serum als sekundäres Phänomen verstehen (70).

V. GRAPHISCHE DARSTELLUNG DER EIGENEN ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Nach diesem Überblick über die klinischen Abweichungen der Haptoglobin-, Hämoexin- und Transferrinwerte seien nun die graphischen Darstellungen des Verhaltens der drei untersuchten Transportproteine in den verschiedenen Altersstufen gegeben:

1. H a p t o g l o b i n

1.1. Altersabhängige Haptoglobinkonzentration in Kinderseren in den Altersgruppen 1 (NV) bis 9 (13. LJ)

Eine graphische Darstellung gibt Abbildung A.

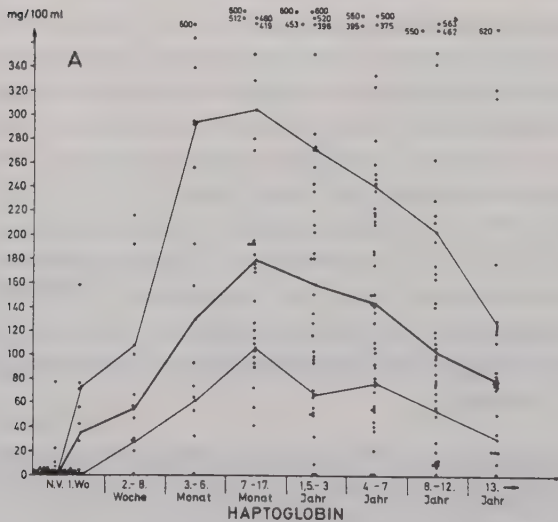


Abb. A: Altersentwicklung der Haptoglobinkonzentration
Nähere Erläuterung im Text

1.2. Diskussion zu der Kurve auf Abbildung A - Haptoglobin

Betrachten wir die Kurve A, so fällt auf, daß in fast allen Altersgruppen das Haptoglobin eine sehr starke Streuung zeigt, worin wir uns in Übereinstimmung finden mit der Literatur.

Im Nabelvenenblut ist, obgleich in einigen wenigen Proben in geringer Menge nachweisbar, das Haptoglobin in den meisten Fällen gleich Null, so daß bei der Aufstellung der Rangliste 1. Quartil, Median und 3. Quartil gleich Null sind, somit unser Normwert für Haptoglobin in dieser Altersgruppe ebenso wie der Streubereich gleich Null ist. Nach wenigen Wochen ist der Haptoglobinspiegel Erwachsener erreicht. Es ist ein leichter Abfall der Werte in den letzten 3 Altersgruppen zu verzeichnen. Dies ist auf den Umstand zurückzuführen, daß in diese Altersgruppen unverhältnismäßig viele pathologisch erniedrigte Werte mit eingingen, die den Medianwert, obwohl auf Grund der Methode stabil gegenüber Ausreißern, doch nicht völlig unbeeinflusst ließen.

In diesem Zusammenhang ist mir daran gelegen, auf die in dieser Arbeit gefundenen pathologisch erhöhten und pathologisch erniedrigten Haptoglobinwerte aufmerksam zu machen:

Als pathologisch erhöht wurden gefunden:

in der Altersgruppe 1:	0	Fälle
in der Altersgruppe 2:	0	Fälle
in der Altersgruppe 3:	0	Fälle
in der Altersgruppe 4:	1	Fall
in der Altersgruppe 5:	5	Fälle
in der Altersgruppe 6:	4	Fälle
in der Altersgruppe 7:	4	Fälle
in der Altersgruppe 8:	3	Fälle
in der Altersgruppe 9:	1	Fall
insgesamt	:	18 Fälle

Dabei handelt es sich um folgende Erkrankungen:

in der Altersgruppe 4:	1 Fall mit Bronchopneumonie
in der Altersgruppe 5:	4 Fälle mit stark entzündlichen Reaktionen und 1 Fall mit Bronchopneumonie
in der Altersgruppe 6:	2 Fälle mit stark entzündlicher Reaktion, 1 Fall mit Lymphadenitis, 1 Fall mit Infekt
in der Altersgruppe 7:	4 Fälle mit stark entzündlicher Reaktion
in der Altersgruppe 8:	1 Fall mit stark entzündlicher Reaktion, 1 Fall mit interstitieller Nephritis, 1 Fall mit Morbus Hirschsprung
in der Altersgruppe 9:	1 Fall mit Morbus Hodgkin

Als pathologisch erniedrigt wurden gefunden:

in der Altersgruppe 1:	0 Fälle
in der Altersgruppe 2:	0 Fälle
in der Altersgruppe 3:	0 Fälle
in der Altersgruppe 4:	0 Fälle
in der Altersgruppe 5:	1 Fall
in der Altersgruppe 6:	6 Fälle
in der Altersgruppe 7:	10 Fälle
in der Altersgruppe 8:	12 Fälle
in der Altersgruppe 9:	13 Fälle
insgesamt	: 42 Fälle

Dabei handelte es sich um folgende Erkrankungen:

in der Altersgruppe 5:	1 Fall mit Herzvitium
in der Altersgruppe 6:	5 Fälle mit Herzvitium, 1 Fall mit Z. n. Leberzirrhose

in der Altersgruppe 7:	5 Fälle mit Herzvitium, 5 Fälle mit Minderwuchs
in der Altersgruppe 8:	4 Fälle mit Herzvitium, 7 Fälle mit Minderwuchs, 1 Fall mit Thalassämia maior
in der Altersgruppe 9:	2 Fälle mit Herzvitium, 9 Fälle mit Minderwuchs, 1 Fall mit autoimmunhämolytischer Anämie, 1 Fall mit Anorexia nervosa.

2. H ä m o p e x i n

2.1. Altersabhängige Hämoexinkonzentration in Kinderseren in den Altersgruppen 1 (Nv) bis 9 (13. LJ)

Eine graphische Darstellung gibt Abbildung B.

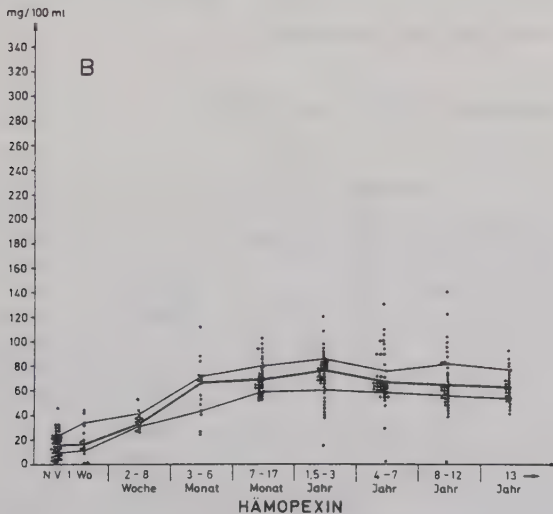


Abb. B: Altersentwicklung der Hämoexinkonzentration

2.2. Diskussion zur Kurve auf Abbildung B - Hämopexin

Die Kurve macht deutlich, daß sich die Hämopexinwerte als wenig beeinflusbar durch irgendwelche Erkrankungen zeigen und nur in geringem Maße um den Medianwert streuen. Bei allen Untersuchungen wurden insgesamt nur drei extrem erniedrigte Hämopexinwerte gefunden.

In einem Fall (der Altersgruppe 7 zugehörig) handelte es sich um ein Kind mit Hervitium und mit einem Haptoglobinwert von 0. Im zweiten Fall (aus der Altersgruppe 8) war ein Kind mit Thalassämia maior betroffen mit ebenfalls nicht vorhandenem Haptoglobin, im dritten Fall (aus der Altersgruppe 2) ein Frühgeborenes. Im Nabelvenenblut ist in allen Fällen Hämopexin vorhanden. Die Annäherung an Erwachsenenwerte findet aber erst nach sechs Monaten statt.

3. Transferrin

3.1. Altersabhängige Transferrinkonzentration in Kinderseren in den Altersgruppen 1 (Nv) bis 9 (13. LJ) und Eisenkonzentration in den Altersgruppen 3 (3 Mo.) bis 9

Eine graphische Darstellung gibt Abbildung C.

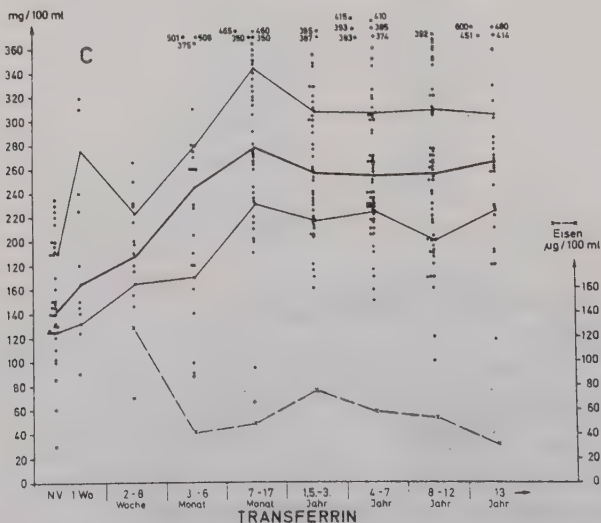


Abb. C: Altersentwicklung der Transferrinkonzentration und der Eisenkonzentration

3.2. Diskussion zu den Kurven auf Abbildung C - Transferrin

Die durchgezogene Kurve zeigt, daß Transferrin in allen Fällen im Nabelvenenblut vorhanden ist, innerhalb der nächsten Wochen und Monate ansteigt, um nach einem Gipfel innerhalb der 5. Altersgruppe sich Erwachsenenwerten anzugleichen (9, 10, 30, 82, 84).

Die gestrichelte Kurve besteht aus insgesamt 86 Eisenwerten, davon

aus der Altersgruppe 1:	0 Fälle
aus der Altersgruppe 2:	0 Fälle
aus der Altersgruppe 3:	5 Fälle
aus der Altersgruppe 4:	7 Fälle
aus der Altersgruppe 5:	11 Fälle
aus der Altersgruppe 6:	11 Fälle
aus der Altersgruppe 7:	17 Fälle
aus der Altersgruppe 8:	23 Fälle
aus der Altersgruppe 9:	12 Fälle

Die beiden Kurven verdeutlichen das im Einklang mit der Literatur stehende gegenläufige Verhalten von Transferrin und Eisen (70).

VI. ZUSAMMENFASSUNG

Alle drei untersuchten Proteine, Haptoglobin, Hämopectin und Transferrin, verhalten sich im Serum als Transportproteine.

Es wird zunächst über die Physiologie der drei Proteine berichtet:

Die Haptoglobine sind eine Gruppe von Glykoproteinen der α_2 -Globulinfraktion mit der Aufgabe, intravasal freigesprochenes Hämoglobin im Serum zu transportieren. Die Haptoglobine zeichnen sich durch einen besonderen Polymorphismus aus, auf den genau eingegangen wird. Insgesamt konnten sechs verschiedene Phänotypen unterschieden werden.

Als Hämopectin wird ein Hämipigmente-bindendes Plasmaprotein bezeichnet. Im Vergleich zu Albumin, das ebenfalls Hämderivate bindet, besitzt Hämopectin die höhere Bindungsaffinität.

Wird intravasal Hämoglobin freigesetzt, so wird es zunächst in Form des Haptoglobin-Hämoglobinkomplexes eliminiert. In dem Maße, wie die Haptoglobinkonzentration abnimmt, werden größere Mengen freien Hämoglobins dissoziiert und oxidiert. Das dabei entstehende Hämatin bildet komplexe Verbindungen mit Hämopectin und Albumin entsprechend ihrer unterschiedlichen Bindungsaffinitäten und wird auf diesem Wege aus dem Kreislauf eliminiert.

Der Eisentransport im Plasma wird durch das Transferrin, ein β_1 -Globulin, gewährleistet. Über den genetischen Polymorphismus des Transferrins sind noch viele Punkte unklar, jedoch sind chemische Unterschiede der verschiedenen Transferrintypen nicht beobachtet worden. Jedes Transferrinmolekül ist in der Lage, zwei Atome Fe^{+++} zu binden. Dieser leicht dissoziierbare Eisen-Transferrinkomplex stellt ein schnell verfügbares, im Blut zirkulierendes, nicht toxisches Eisendepot dar und verhindert den Verlust von Plasmaeisen durch die Niere. Seine wichtigste Aufgabe erfüllt das Transferrin bei den Austauschvorgängen des Eisens im RES und im Knochenmark. Es besteht eine direkte Linearität zwischen totaler Eisenbindungskapazität des Serums und seiner Transferrinkonzen-

tration. Es gilt:

1 mg Transferrin bindet unter vollkommener Sättigung 1,25 µg Eisen. Der normale Transferringehalt entspricht einer eisenbindenden Kapazität von 250 - 450 µg Eisen je 100 ml Serum. Dies wird als totale Eisenbindungskapazität bezeichnet. Normalerweise ist Transferrin nur zu einem Drittel mit Eisen gesättigt. Unter latenter Eisenbindungskapazität versteht man die Differenz zwischen totaler Eisenbindungskapazität und transferringebundenem Eisen.

Die quantitative Haptoglobin-, Hämoexin- und Transferrinbestimmung wurde ausschließlich mit Hilfe der einfachen radialen Immundiffusion durchgeführt, deren Prinzip eine Antigen-Antikörper-Reaktion ist, wobei das zu untersuchende Protein als Antigen fungiert, während sich das gegen dieses Antigen gerichtete Antiserum in der Gelschicht befindet. In diese Gelschicht sind Löcher gestanzt, die in 5 µl Serum aufgetragen werden. Durch die stattfindende Antigen-Antikörper-Reaktion bildet sich ein Präzipitatring, für dessen ins Quadrat erhobenen Durchmesser gilt:

$$D^2 = \frac{4 \cdot V_{Ag}}{p \cdot T \cdot \pi \cdot h} \cdot C_{Ag} + d^2$$

Der quadrierte Durchmesser der Präzipitatringe der drei Standardseren wurde in einem Koordinatensystem auf Millimeterpapier auf der Ordinate, die dazugehörigen Konzentrationen auf der Abszisse aufgetragen. Die für die drei Standardverdünnungen erhaltenen Wertepaare ergeben die Eichgerade, an der die Konzentrationen der zu untersuchenden Seren abgelesen wurden. Eine Erleichterung und einen Gewinn an Genauigkeit brachte die Ermittlung der Konzentrationen mit Hilfe des Tischrechners. Das dabei verwendete Verfahren lautete:

Ermittlung einer linearen Regression und Erstellung einer Regressionsgeraden $y = a + bx$.

Untersucht wurden Seren von Kindern in den Altersgruppen 1 (Nabelvene) bis 9 (13. LJ). Im Hinblick auf die Transferrinbestimmung wurden nach Möglichkeit Seren ausgewählt, bei denen Eisen-

werte vorlagen. Die Untersuchungen führten zu der auf Seite 25 aufgeführten Tabelle mit Normwerten.

Zur Erstellung von Normwerten und Streubereichen gelangt man unter Anwendung des Median/Quartilsystems. Die dabei übliche schrittweise deskriptive Analyse der Daten wird am Beispiel der Haptoglobininwerte der Altersgruppe 4 gezeigt. Auf die Vorzüge dieser Methode wird eingegangen.

In diesem Zusammenhang wird im Anschluß an die Tabelle mit Normwerten über die klinischen Abweichungen der drei Proteine berichtet.

Pathologische Erhöhungen des Haptoglobins als eines acute-phase-reactants finden sich vor allem als Antwort auf verschiedene entzündliche Reize, ferner bei Lungenkrankheiten, nach Stress, bei Cholecystopathie und Diabetes mellitus.

Zur Haptoglobininabnahme kommt es bei vermehrter Hämolyse als Ausdruck des vermehrten Verbrauchs des Haptoglobins, der keinen kompensatorischen Anstieg der Syntheserate herbeiführt. Des weiteren ist das Haptoglobin erniedrigt bei Leberparenchymschäden, vegetativer Dystonie, Osteomyelose.

Ein erhöhtes Hämoexin wird beobachtet bei verschiedenen Erkrankungen mit entzündlichen, nekrotisierenden und neoplastischen Gewebeprozessen.

Eine Hypohämoexinämie kommt bei mit Hämolyse einhergehenden Zuständen vor, in der Regel nur, wenn die Haptoglobinkonzentration auf stark verminderte oder nicht mehr meßbare Werte abgesunken ist, außerdem bei Blutungen in Körperhöhlen oder innere Organe und bei Leberparenchymschäden.

Transferrin ist erhöht in der Gravidität, bei Eisenmangelanämie und Hepatitis, erniedrigt bei Neoplasien, entzündlichen Erkrankungen, hämolytischen Anämien, nephrotischem Syndrom und Lebererkrankungen. Hyposiderinämie und Transferrinerhöhung sind als Zeichen einer Eisenmangelsituation zu werten, Hyposiderinämie und Verminderung des Transferrins entspricht einer entzündlichen oder neoplastischen Erkrankung. Bei der Diskussion der Normwerte

veranschaulichenden Kurven werden die pathologisch erhöhten und pathologisch erniedrigten Werte herausgestellt. Die als pathologisch erhöht aufgefallenen Haptoglobinwerte gehören zu folgenden Krankheiten: Entzündliche Reaktion, Infekt, Lymphadenitis, M. Hodgkin, M. Hirschsprung, Bronchopneumonie. Bei den pathologisch erniedrigten Haptoglobinwerten fanden sich Fälle mit Herzvitium, Minderwuchs, autoimmunhämolytischer Anämie, Thalassämia maior.

Die Hämopexinkurve zeigt, daß sich das Hämopexin sehr stabil verhält. Es fielen lediglich drei extrem erniedrigte Werte mit ebenfalls extrem erniedrigtem Haptoglobin auf.

Die das Normalverhalten des Transferrins deutlich machende Kurve wird zusammen mit einer aus 86 Eisenwerten bestehenden Kurve gezeigt. Dabei wird das gegenläufige Verhalten von Transferrin und Eisen deutlich.

VII. LITERATURVERZEICHNIS

1. ALLISON, A.C.:
Genetic control of human haptoglobin synthesis
Nature (Lond.) 183, 1312 (1959)
2. ALLISON, A.C. und W. ap REES:
The binding of hemoglobin by plasmaproteins (haptoglobins),
its bearing on the "renal threshold" for hemoglobin and the
etiology of hemoglobinuria.
Br.Med.J. 2, 1137, (1957)
3. ALY, F.W., BEUING, H., DEICHER, H., CLEVE, H. und
W. NIX:
Different antigenic determinants of normal human haptoglobins.
Prot. biol. Fluids 12 (1964)
4. ALY, F.W. und H.J. BRAUN:
Bestimmung des Serumhaptoglobins mit der Immunodiffusions-
methode
Klinische Wochenschrift, 46. Jahrgang, Heft 7 (1968) 385-387
5. ALY, F.W., BRINKER, G., CLEVE, H., DEICHER, H., HART-
MANN, F. und W. NIX:
Immunologische Hämoexin- und Haptoglobinuntersuchungen
bei Anämien.
Prot. biol. Fluids 9th Coll., 329 (1961) Amsterdam, Elsevier
Pub. Comp.
6. BECKER, W., RAPP, W., SCHWICK, H.G. und K. STÖRIKO:
Methoden zur quantitativen Bestimmung von Plasmaproteinen
durch Immunpräzipitation.
Z. klin.Chem. klin.Biochem. 6/133 (1968)
7. Behringwerke AG Med. Information und Vertrieb,
6230 Frankfurt (M) 80, Postfach 80 02 80
D. div. 1140 Dezember 1974 (7137) 50
8. Behringwerke AG:
Quantitative Bestimmung von Plasmaproteinen
Sach- und Autorenverzeichnis für die Referate 1-188 (1974)
Ref. 45 55 56 75 159 175
9. BETKE, K.:
Die Anämien des Neugeborenen
Dtsch.med.Wschr. (1961)

10. BETKE, K.:
Haushalt und Regulation des Blutfarbstoffes im Kindesalter.
Arch. Kinderheilk. 159, 51 (1959)
11. BISERTE, G., HAVEZ, R. und J. LATURAZE:
Caractérisation électrophorétique et immunologique du
séromucoïde $\beta 1$ dans le sérum sanguin humain.
C.R. Soc. Biol. (Paris) 154, 2061 (1960)
12. BISERTE, G., HAVEZ, R., HAYEM, H.:
Isolement du séromucoïde $\beta 1$ ($\beta 1A$ -globuline)
Etude de son pouvoir de liaison avec les chromoprotéïdes.
C.R. Acad.Sci. (Paris) 250, 418 (1960)
13. BISERTE, G., HAVEZ, R., LATURAZE, J., HAYEM-LEVY, A.:
Séparation chromatographique sur DEAE-cellulose de quelques
séromucoïdes (α -séromucoïde, α_1 -glycoprotéïne, haptoglobine,
et séromucoïde $\beta 1$)
C.P. Soc. Biol. 154, 2067 (1960)
14. BLACK, J.A. und G.H. DIXON:
Amino acid sequence of α -chains of human haptoglobins.
Nature, Lond. 218, 736-741 (1968)
15. BRAUN, H.J.:
Eigenschaften, Funktion und Serumkonzentration des mensch-
lichen Hämoexins
Klinische Wochenschrift, 49. Jahrgang, Heft 8 (April 1971),
445-451
16. BRAUNSTEINER, H., GISINGER, E. und F. PAKESCH:
Ferritin, Transferrin und Serumeisen. Klin.Wschr. 30 394
(1952)
17. BUNN, H.F.:
Erythrocyte destruction and hemoglobin catabolism.
Serum hematology 9, 3 (1972)
18. CLEVE, H. und H. DEICHER:
Haptoglobin "Marburg". Untersuchungen über eine seltene
erbliche Haptoglobinvariante mit 2 verschiedenen Phänotypen
innerhalb einer Familie.
Humangenetik 1, 537-550 (1965)

19. CONNELL, G.E., DIXON, G.H. et al.:
Subdivision of the three common haptoglobin types based on
"hidden" differences.
Nature (Lond.) 193:505 (1962)
20. CONNELL, G.E. und O. SMITHIES:
Human haptoglobins: estimation and purification.
Biochem. J. 72: 115-121 (1959)
21. EHNHOLM, CHR.:
Subtyping Haptoglobins with precipitating antisera.
Int. Arch. Allergy (1969) Spalten 1-12
22. FLETCHER, J. und E.R. HUEHNS:
Function of transferrin
Nature (Lond.) 218, 1211 (1968)
23. FREEMAN, T.:
Haptoglobin metabolism in relation to red cell destruction
Prot. biol. Fluids 12, 344 (1964) Proc. 12th Coll.
Bruges 1964
24. GANZONI, A.M., HAHN, D. und B. SPÄTI:
Plasma iron transport. Absence of an uniform system.
Blut 24, 269 (1972)
25. GANZONI, A.M.:
Die Resorption von Eisen.
Schweiz. med. Wschr. 101, 1569 (1971)
26. GEIGER, H. und P. HOFFMANN:
Quantitative immunologische Bestimmung von 16 verschiedenen
Serumproteinen bei 260 normalen 0-15 Jahre alten Kindern
Zeitschrift für Kinderheilkunde 109 (1970) 22-40
27. GIBLETT, R.:
Genetic markers in human blood.
Oxford, scientific publications, 1969 p. 126
28. GOYA, N., MIYAZAKI, S. et al.:
A family of congenital atransferrinemia
Blood 40: 239 (1972)

29. GRABAR, P., VAUX ST.-CYR, CHR. de, und H. CLEVE:
Présence de β 1B-globuline dans les extraits perchloriques
de sérums humains normaux.
Bull. Soc. chim. biol. (Paris) 42/853 (1960)
30. HAGBERG, B.:
The iron-binding capacity of serum in infants and children.
Acta paediat. (Uppsala) 42, Suppl. 931 (1953)
31. HEILMEYER, L.:
Altes und Neues vom Eisenstoffwechsel.
Münchener Med. Wschr. 107, 805 (1965)
32. HEILMEYER, L.:
Der Eisenstoffwechsel in: Handbuch der Inneren Medizin,
Blut und Blutkrankheiten, Teil 1
Teil 1 Berlin - Heidelberg - New York Springer (1968)
33. HEILMEYER, L., KELLER, W. et al.:
Kongenitale Atransferrinämie bei einem 7 Jahre alten Kind.
Dtsch. Med. Wschr. 86 1745 (1961)
34. HEILMEYER, L., KELLER, W., VIVELL, O., BETKE, K.,
WÖHLER, F. und W. KEIDERLING:
Die kongenitale Atransferrinämie.
Schweiz. Med. Wschr. 91 (1961) 1203
35. HEILMEYER, L., MERKER, H., WETZEL, H.-P., KLEMM, D.,
BURMEISTER, P. und R. HAAS:
Atransferrinämie bei nephrotischem Syndrom.
Dtsch. Med. Wschr. 90 1964 (1965)
36. HERMAN-BOUSSIER, G., MORETTI, J. et M.F. JAYLE:
Etude de l'haptoglobine II, propriétés physiques et chimiques
des haptoglobines des types I et II et de leurs complexes
avec l'hémoglobine.
Bull. Soc. chim. biol. (Paris) 42, 837 (1960)
37. JANDL, J.H. und H.J. KATZ:
The plasma-to cell-cycle of transferrin.
J. clin. Invest. 42/314 (1963)
38. JAYLE, M.F. und BOUSSIER
(über die erste Reindarstellung des Haptoglobins)
Bull. Soc. chim. biol. 36, 959 (1954)

39. JAYLE, M.F. und J.MORETTI:
Haptoglobin: biochemical, genetic and physiopathological aspects.
Progr. Haemat. Vol.3 pp. 342-359
Grune and Stratton, New York (1962)
40. JAYLE, M.F.:
Méthode de dosage de l'haptoglobine sérique.
Bull. Soc. chim. biol. 33, 876 (1951)
41. KATZ, J.H.:
Iron and protein kinetics studied by means of doubly labelled human crystalline transferrin.
J. clin. Invest. 40: 40 214, 1961
42. KAWAI, T.:
Clinical aspects of the Plasma Proteins
Igaku Shoin Ltd. Tokyo
Springer-Verlag Berlin - Heidelberg - New York (1972)
28-32, 38-42, 42-44
43. KORNGOLD, L.:
Antigenic differences among human haptoglobins.
Int Arch Allergy 23 268-280 (1963)
44. KUNKEL, H.G.:
(über die hereditären Typen)
in "The Plasma Proteins"
ed. by F.W. Putman Academic Press, New York 1960
45. LAURELL, C.B.:
Purification and properties of different haptoglobins.
Clin. chim. Acta 4, 79 (1959)
46. LAURELL, C.B.:
Quantitative estimation of proteins by electrophoresis in agarose gel containing antibodies
Analyt. Biochem. 15, 45 (1966)
47. LAURELL, C.B.:
(über die biologische Rolle des Transferrins)
in "The Plasma Proteins"
ed. by F.W. Putman, Acad. Press New York 1960
Scand. J. Clin. Invest 17, 271 (1965)

48. LAURELL, C.B.:
Serumproteine und Eisentransport in W. KEIDERLING "Eisenstoffwechsel".
Stuttgart, Georg Thieme Verlag, (1959)
49. LAURELL, C.B. und M. NYMAN:
Studies on the serum haptoglobin level in hemoglobinemia and its influence on renal excretion of hemoglobin.
Blood 12, 493 (1957)
50. LUNDH, B., OSKI, F.A. und GARDNER, F.H.:
Plasma hemopexin and haptoglobin in hemolytic diseases of the newborn.
Acta paediat. Scand. 59 121-126 (1970)
51. MÄKELA, O., und RUOSLAHTI, E.:
Über die Möglichkeiten der Blutuntersuchungen bei der Vaterschaftsbestimmung.
Lakimies-lehti 1: 86-90 (1966)
52. MANCINI, G., CARBONARA, A.O. und J.T. HEREMANS:
Immunochemical quantitation of antigens by simple radial immunodiffusion.
Immunochem. 2 (1965) 235
53. MARTIN, C.M.:
(über die antimikrobielle Aktivität des Transferrins) in:
Am.J.Med.Sci., 244, 334 (1962)
54. MARTIN, C.M. und JANDL, J.H.:
(über die antimikrobielle Aktivität des Transferrins) in:
J. Clin. Invest. 381 1024 (1959)
55. MIALE, J.B.:
(über die Verhütung von Eisenverlust durch Transferrin) in:
Laboratory Medicine-Hematology 3rd Ed. Mosby Co. St. Louis, (1967)
56. NATHAN, S.D. und F. OSKI:
Hematology of Infancy and Childhood.
W.B. Saunders Company Philadelphia, London, Toronto (1974)
822-826, 831-832
57. NEDE, F.C., ABER, G.M. und NORTHAM, B.E.:
(über die Häm-bindende Kapazität des Hämoexins) in:
J.Clin.Path. 11, 206 (1958)

58. NETH, R., SCHÄFER, K.H., DILLY, P. und E. LAACK:
Untersuchungen zur mikrochemischen Bestimmung der latenten und totalen Eisenbindungskapazität im Serum.
Klin.Wschr. 41, 1087 (1963)
59. NYMAN, M.:
On Plasma Proteins with heme or hemoglobin binding capacity.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 12, 121 (1960)
60. NYMAN, M.:
Haptoglobinbestimmung im Serum und Verhältnis zu SMITHIES Serumgruppen.
Clin. chem. Acta 3 111 (1958)
61. OUCHTERLONY, Ö.:
Diffusion-in-gel-methods for immunological analysis.
Progr.Allergy 6, 30 (1962)
62. OUDIN, J.:
La diffusion d'un antigène dans une colonne de gel contenant les anticorps précipitant homologues.
Etude quantitative des trois principales variables.
C. R. Acad. Sci. Paris 288, 1890 (1949)
63. OVERKAMP, H.:
Untersuchungen über das Verhalten der Serumproteine bei intravenöser Applikation großer Eisenmengen.
Ärztliche Forschung 7, 478 (1953)
64. PARKER, W.C. und BEARN, A.G.:
(über die Aminosäurezusammensetzung des Transferrins) in:
Science 137, 854, J. Exp. Med., 115, 83, 1982.
65. PIMSTONE, N.R.:
Renal degradation of hemoglobin.
Semin. Hematol. 9, 31 (1972)
66. POLONOVSKI, M. und M.F. JAYLE:
L'existence dans le plasma sanguin d'une substance activant l'action peroxidase de l'hémoglobine.
C. R. Soc. Biol. 129, 457 (1938)
67. POLONOVSKI, M. und M. F. JAYLE:
Sur la préparation d'une nouvelle fraction des protéines plasmatiques, l'haptoglobine.
C. R. Acad. Sci. (Paris) 211, 517, 1940

68. PROKOP, O. und G. BUNDSCHUH:
Die Technik und die Bedeutung der Haptoglobine und Gen-
gruppen in Klinik und Gerichtsmedizin.
Berlin, W. de Gruyter u. Co. (1963)
69. PUTMAN, F.W.:
(über die Wanderungsgeschwindigkeit der einzelnen Hp-
typen) in:
"The Proteins", ed. by H. NEURATH, Vol.111, Acad. Press,
New York, 1965
70. RENTSCH, I.:
Quantitative immunologische Transferrinbestimmung.
Klin. Wschr., 47. Jahrgang, Heft 8 (1969) 433-437
71. SCHADE, A., REINHART, R. et al.:
Carbon dioxide and oxygen in complex formation with iron
and siderophilin, the iron-binding component of human
plasma.
Arch. Biochem., Biophys., 20, 170 (1949)
72. SCHADE, A.L., REINHART, R. und A. LEVY:
Siderophilin.
Arch. Biochem., 20, 170 (1949)
73. SCHADE, H.L.:
Bound iron and iron binding capacity, quantitative deter-
mination method.
Nutr. Rev. 13, 225 (1955)
74. SCHULTZE, H.E., HEIDE, H. und H. HAUPT:
Charakterisierung von hochgereinigtem Hämoexin.
Naturwissenschaften 48/696 (1961)
75. SCHULTZE, H.E. und J.F. HEREMANS:
Molecular Biology of Human Proteins.
Elsevier Publishing Company, Amsterdam (1966) 384 ff.
76. SCHULTZE, H.E. und G. SCHWICK:
Quantitative immunologische Bestimmung von Plasmaproteinen.
Clin. Chem. Acta 4, 15 (1959)
77. SEARS, D.A. und H. ROSEN:
Spectral Properties of hemopexin-heme: the Schumm-test.
J. Lab. Clin. Med. 74, 941 (1969)

78. SMITHIES, O. und G.E. CONNELL:
Biochemical aspects of the inherited variations in human serum haptoglobins and transferrins.
Biochem. Hum. Genet. pp 178-189
79. SMITHIES, O., CONNELL, G.E. et al.:
Gene actions in the human haptoglobins
Dissociation into constituent polypeptide chains
J. Mol. Biol. 21, 213 (1966)
80. SMITHIES, O., CONNELL, G.E. et al.:
Chromosomal rearrangements and evolution of haptoglobin genes.
Nature (Lond.) 196, 232 (1962)
81. SMITHIES, O., CONNELL, G.E. und G.H. DIXON:
(über die chem. Struktur der Haptoglobine) in:
Am. J. Human Genet. 14, 14 (1962)
82. STURGEON, P.:
Iron metabolism: a review with special consideration of iron requirements during normal infancy.
Pediatrics 18, 267 (1956)
83. TROWITZSCH, J., BLÄKER, F. und W. SCHRÖTER:
Haptoglobin und Bilirubin im Serum Frühgeborener.
Monatsschrift für Kinderheilkunde, 119. Band, Heft 1 (1971)
84. VAHLQUIST, B.:
Das Serumeisen: Eine pädiatrische und experimentelle Studie.
Acta paediat. (Uppsala) 38, Suppl. 5 (1941)
85. Van der HEUL, C., van EIJK, G., WILTINK, W.F. und B. LEIJNSE:
The binding of iron to transferrin and to other serum components at different degrees of saturation with iron.
Clin. Chim. Acta 38, 347 (1972)
86. VENTURA, S.:
Determination of the unsaturated iron-binding capacity of serum.
J. Clin. Path. 5, 271 (1952) Haematologica 38, 587 (1954)
87. WANG, A.C., SUTTON, H.E. et al.:
A chemical difference between transferrins B₂ and C.
Am. J. Human Genet. 18, 434 (1966)

88. WEIPPL, G.:
Eisenmangelzustände im Kindesalter.
Wien, Klin. Wschr. 73, 31 (1961)
89. WHITTAKER, M.:
Serum haptoglobin in the nephrotic syndrome, other renal
diseases and rheumathoid arthritis.
Am. J. Clin. Path. 4, 454 (1968)
90. WHITTEN, C.F.:
Studies on serum haptoglobin.
A functional requiry.
New Engl. J.
Med. 266, 529, (1962)
91. WUHRMANN, F. und H.H. MÄRKI:
Dysproteinämien und Paraproteinämien.
Verlag Schwabe und Co., Basel und Stuttgart (1963)

Elisabeth Charlotte Baumann
Dreiterspitzstraße 2
8100 Garmisch-Partenkirchen

LEBENS LAUF

- 18.7.1949 Geburt in München
 Vater: Richard Baumann
 (Oberamtsrat a.D.)
 Mutter: Bertl Baumann (Hausfrau)
- 1955 Eintritt in die evangelische Bekenntnis-
 schule,
 Rotbuchenschule München
- 1959 Eintritt in das Theodolinden-Gymnasium
 München
 (Neusprachlicher Zweig)
- 1968 Abitur
- 1968 Beginn des Studiums der französischen
 Sprache am Sprachen- und Dolmetscher-
 Institut München
- 1971 Abschluß des Französisch-Studiums
 mit dem Diplom für Übersetzer und
 Dolmetscher im Fachgebiet Naturwissen-
 schaften und der Staatlichen Prüfung
 für Übersetzer und Dolmetscher
- 1970 Certificate of Proficiency in English
- 1971 Beginn des Studiums der Humanmedizin
 an der Ludwig Maximilians-Universität
 München
 Während des Medizinstudiums insge-
 samt sechs Monate Famulaturen,
 davon 1 Monat in Norwegen
- Mai 1978 Ablegung des III. Teils der
 Ärztlichen Prüfung

Juni 1978

Erlangung der Approbation
als Arzt

von August 1978
bis September 1979

Anstellung an der chirurgischen Klinik
der Universität München

von Oktober 1979
bis Juli 1980

an der chirurg. Abteilung des
Kreiskrankenhauses Garmisch-Partenkirchen

von August 1980
bis Juli 1981

an der allgem.-chir. Abteilung
am Klinikum der Universität Kiel

